ルミノ・イメージアナライザー

LAS-3000

操作ガイド

第1版 2002年10月

はじめに

このたびは、ルミノ・イメージアナライザーLAS-3000をお買い求めいただきまして、まことにありがとうございます。
本書は機器説明等において使用される事を目的として記述されております。従って、機能・使い方についての記述が簡略化されていますので、詳細な内容につきましては付属されている取扱説明書をご覧ください。

目次 Index

＊ LAS-3000 はシステムによって励起光（落射／透過）・フィルタ・レンズ・解析部の構成品が異なります。それぞれのシステムをご確認ください。本文中では、「LAS-3000」基本システムについて記述してあります。

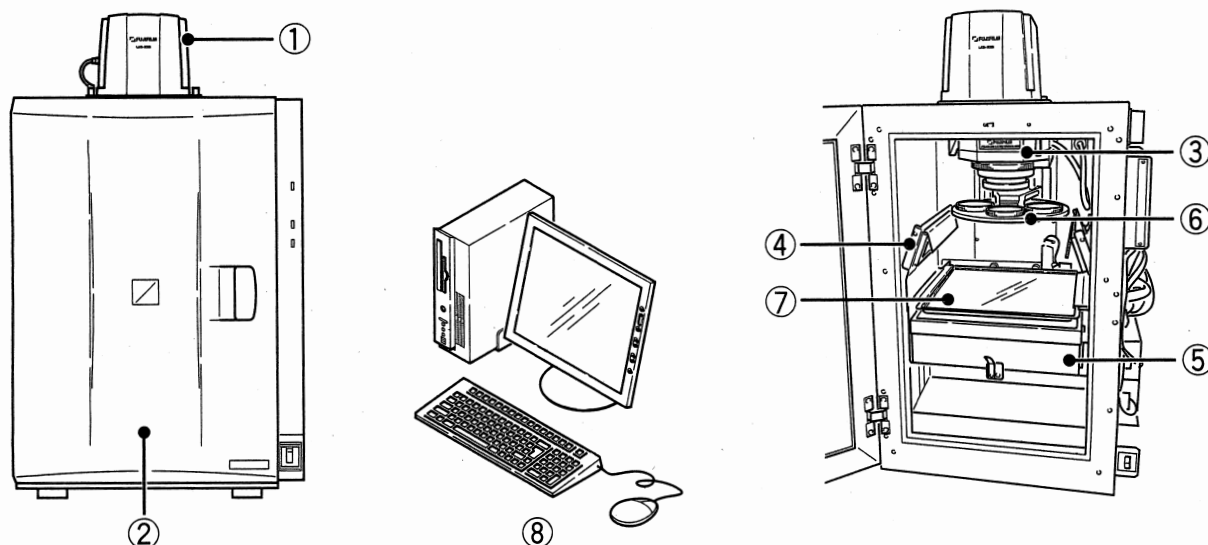
1 ルミノ・イメージアナライザーの特長

LAS-3000では化学発光法、蛍光サンプルを高感度に検出するとともにデジタル画像として画像処理や定量解析を簡単に実現することができます。また、白色光によるデジタイズも可能です。

- 320万画素スーパーCCDハニカムを採用しハニカム画像処理により630万画素の高精細画像を実現。
- 新設計F0.85大口径レンズを搭載。
  4段階の画素結合（ビニング）機能と合わせて、化学発光を高感度に検出可能。
- UV透過イルミネーター、落射青色LEDにより蛍光が高感度に検出可能。
- 新設計の読み取りソフトウエアにより、操作性が大幅に向上。

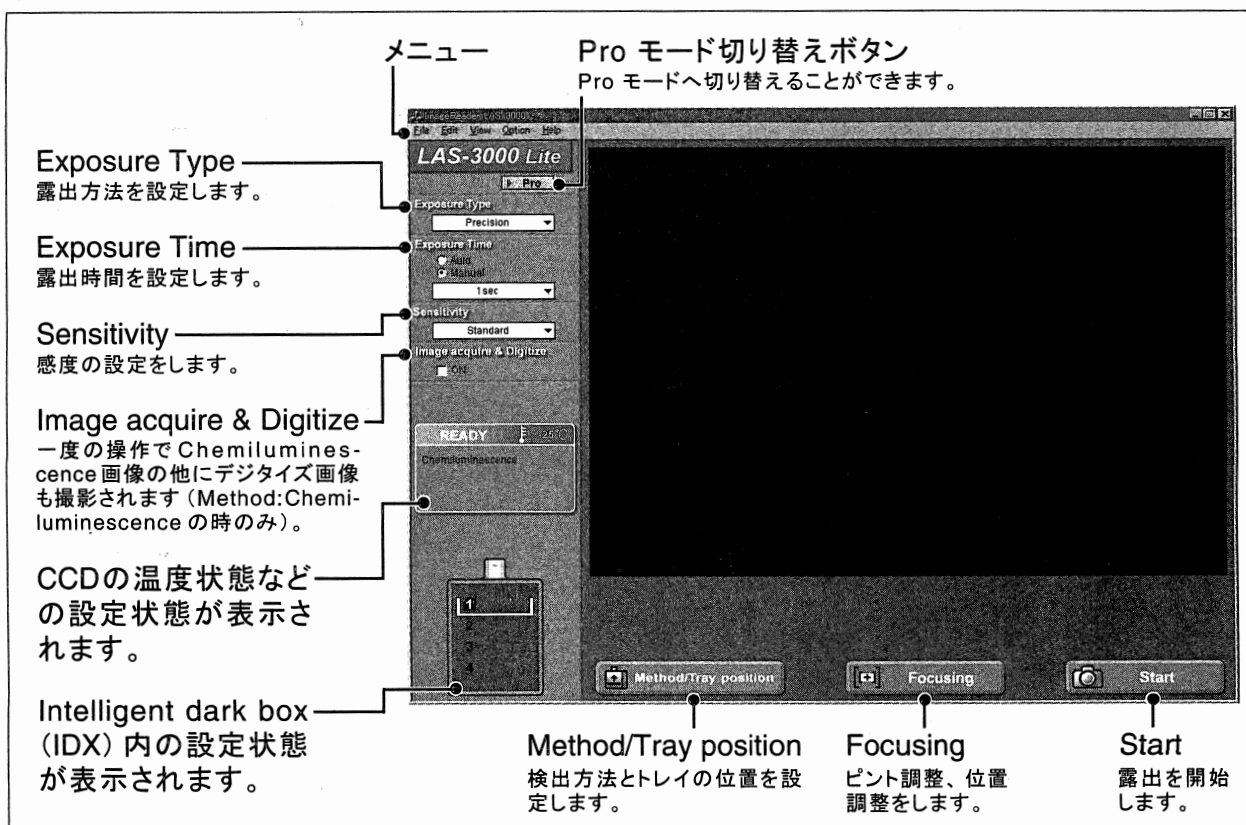
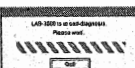
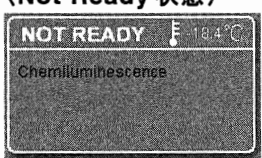
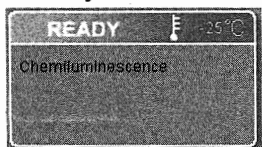
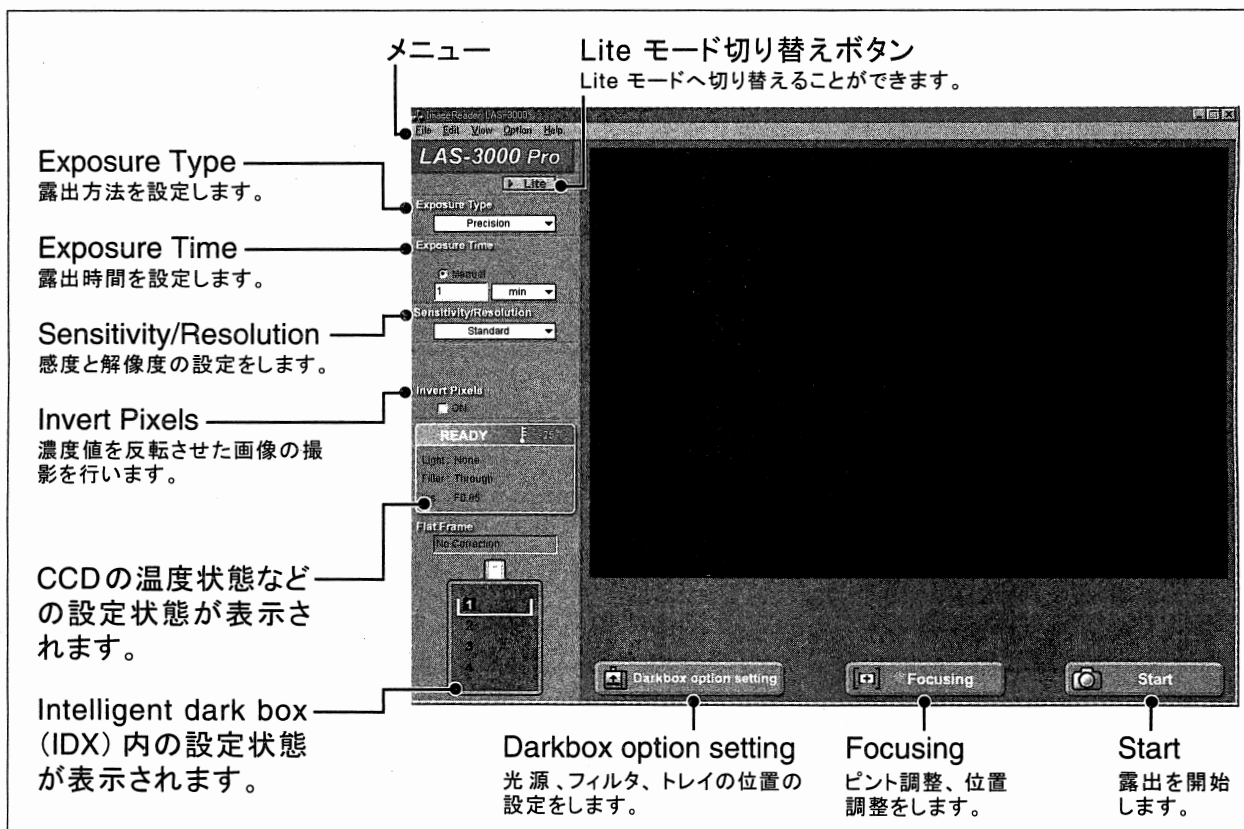
2 システム構成と各部名称

〈LAS-3000システム構成図：例〉

〈Intelligent dark box（IDX）内部〉

	名　　称	説　　明
①	カメラヘッド	CCD冷却機能と画像データ化
②	Intelligent dark box（IDX）	暗箱
③	高感度レンズ	F0.85/43mm
④	落射光源	主波長460nmの青色励起光源 白色落射光源
⑤	透過光源	312nmのUV光源もしくは 白色透過光源
⑥	フィルタチェンジャ	フィルタ（Y515Di、605DF40、510DF10）
⑦	サンプルトレイ	EPIトレイ（化学発光、落射光源用）、 DIAトレイ（透過光源用）、NPトレイ（タイタープレート用）
⑧	コンピューター本体	解析作業
●	ピクトログラフィー	カラー印刷（オプション）

読み取りソフトウエア

読み取りソフトウエアは、Lite モードとPro モードで構成されています。Lite モードでは、検出手法が設定されているので簡便に検出ができ、Pro モードは、高度な組み合わせが設定できます。

〈Lite モード画面〉

〈Pro モード画面〉

3 撮影準備

1 起動方法

操作手順	操作方法
1	IDXおよびコンピュータと周辺機器の電源を入れます。
2	読み取りソフトウエアLAS-3000 ImageReaderを起動します。 ➡ LAS-3000の準備が整うまでメッセージが表示されています。
3	CCD温度設定状態がReadyになったのを確認します。 **〈Not Ready 状態〉** NOT READY -18.4℃ Chemiluminescence **〈Ready 状態〉** READY -25℃ Chemiluminescence

Tips
- 電源投入後数分間で読み取り可能な状態になります。読み取り可能な状態では、Power LEDのみが緑色に点灯しています。
  通常状態ではCCDカメラの冷却温度は、−30℃に設定されています。
- CCD設定温度状態がNot Ready状態でも、Method/Tray position, Darkbox option settingを行うことができます。温度が下がるまでの時間にサンプルのセッティングをすることが可能です。

Note
- IDXの電源、コンピュータの電源はどのような順番で入れても動作します。ピクトログラフィーが接続されている場合は、ピクトログラフィーの電源を先に入れてください。
- 冷却温度が−30.0℃で安定したときにReady状態になります。

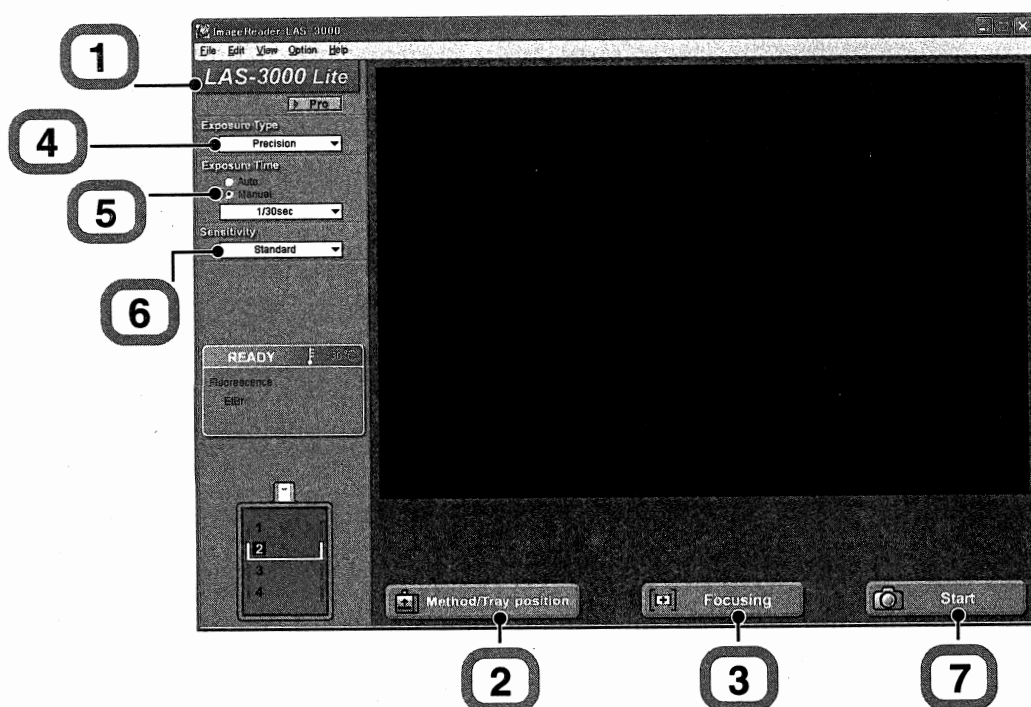
2 サンプルのセッティング

操作手順	操作方法
1	**検出するサンプルに合ったトレイを選びます。**
2	**サンプルトレイにサンプルを置きます。** 段数ごとに読み取り範囲が異なりますので、サイズに合った位置にサンプルを置きます。 **〈撮影サイズと段数〉** Position 1: 210mm × 140mm Position 2: 180mm × 120mm Position 3: 144mm × 96mm Position 4: 105mm × 70mm
3	IDXのドアを開け、トレイをセットします。 EPIトレイとDIAトレイは穴のあいている方を手前にしてセットします。
4	IDXのドアを閉めます。

検出方法	サンプルの種類	トレイ
化学発光	メンブレン	EPIトレイ
	タイタープレート	NPトレイ
蛍光	ゲル（UV検出）	DIAトレイ
	ゲル（LED検出）	EPIトレイ
	メンブレン	EPIトレイ
デジタイズ	メンブレン	EPIトレイ
	ゲル（CBB、銀染色）	DIAトレイ

Tips
EPIトレイには、各段ごとのサイズ合わせ用の丸いへこみがありますので、そのへこみを目安にサンプルを置くと便利です。

4 サンプルの撮影（Lite モード）

光源とフィルタが決まった組み合わせで設定されます。

1 モードの設定

操作手順	操作方法
1	モードが Lite モードになっていることを確認します。

※取扱説明書 92 ページ参照

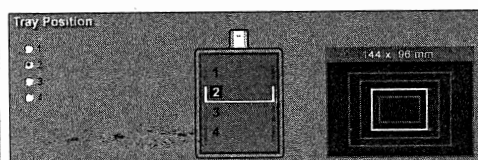
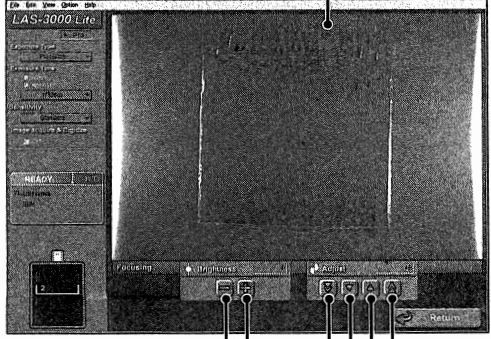
2 手 法 、トレイポジションの設定

2

Method/Tray position ボタンをクリックします。

(1) Method を選択します。

検出対象	Method
化学発光、生物発光	Chemiluminescence
UV 光源（312nm）を用いた蛍光	Fluorescence:EtBr
青色落射光源（460nm）を用いた蛍光	Fluorescence:SYBRGreen,GFP
白色落射光源を用いたデジタイズ	Digitize:EPI
白色透過光源を用いたデジタイズ	Digitize:DIA

(2) Tray Positionをサンプルにあわせて選択します。

(3) OKボタンをクリックします。

※取扱説明書 104 ページ参照
※本書 14 ページ参照

3 ピントの調整

3

Focusing ボタンをクリックします。

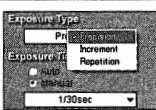
画面上をクリックすると拡大・縮小ができます

見え方の明るさが暗くなります

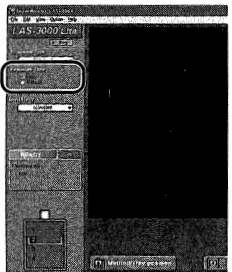
見え方の明るさが明るくなります

ピントの調整を行います。このボタンをクリックすると大まかな調整ができます

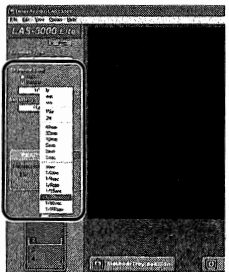
細かなピント調整が行えます

サンプルの位置とピントを確認します。
Return ボタンをクリックします。

Note Brightnessの調整を行っても実際の撮影には影響しません。

※取扱説明書 97, 110 ページ参照

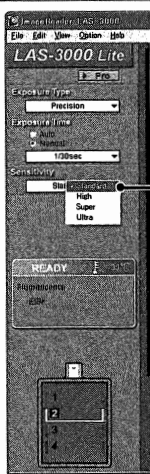
4 露出方法、露出時間の設定

4

Exposure Type の Precision を選択します。

Exposure Type
Precision
Increment
Repetition
1/30sec

5

Exposure Time の Auto または Manual ボタンをクリックします。

〈Auto の 場 合〉
プレスキャンによる自動露出をします。

〈Manual の 場 合〉
リストの中から露出時間を選択するか、露出時間を数値入力します。

※取扱説明書 93, 94 ページ参照
※本書 12 ページ参照

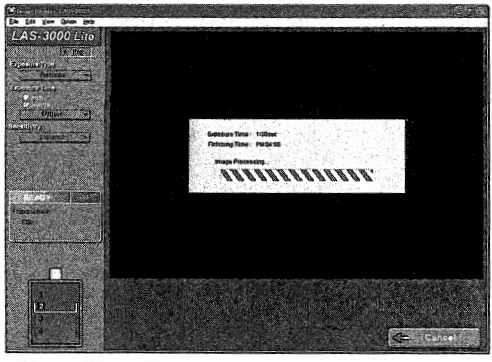
5 感度の設定

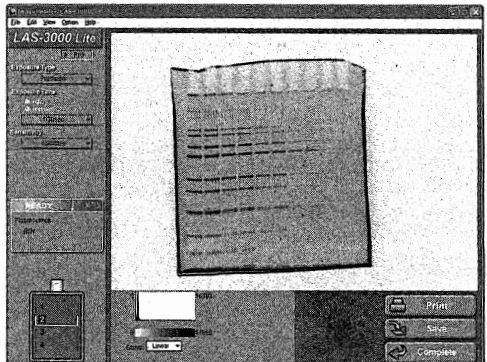
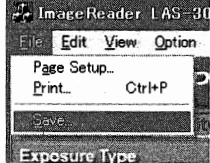
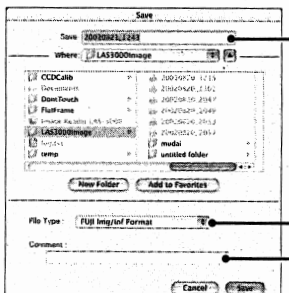
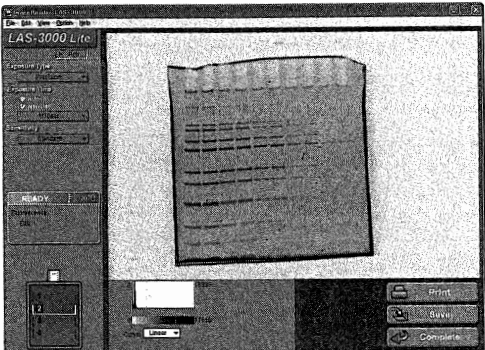
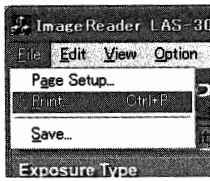
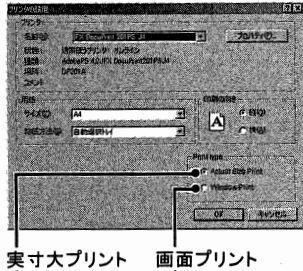
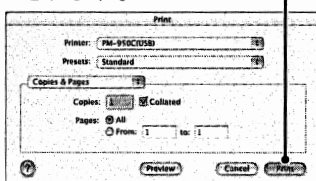
6

Sensitivity の選択をします。
この部分を押し、リストから選択します。

Tips 複数画素を1画素にする(ビニング)ことにより、感度が向上します。 画素補間を行うことによって画素数を増やしています。
Standard, High, Super, Ultraの順に感度が高くなります。

Sensitivity	撮影画素数	画素数
Standard	1536 × 1024	1536 × 1024
High	768 × 512	1536 × 1024
Super	384 × 256	1536 × 1024
Ultra	192 × 128	1536 × 1024

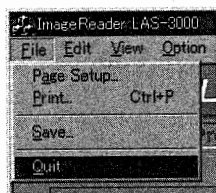
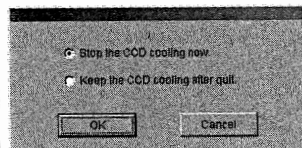
※取扱説明書 101 ページ参照
※本書 13 ページ参照

Tips Chemiluminescence モードの場合のみ、Image acquire & Digitize 機能を使用することができます。この機能は、ChemiluminescenceとDigitize画像を一度に撮影することができます。

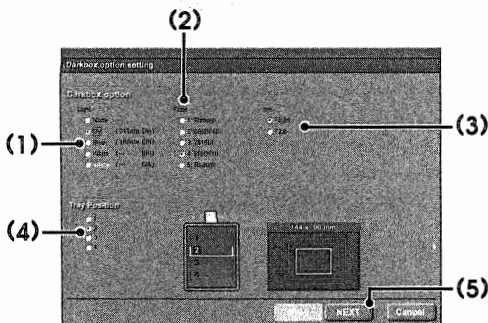
6 露出

7	Start ボタンをクリックします。 露出が開始されます。 ➡ 露出中はオレンジ色のBusy LEDが点灯しています。

※取扱説明書 98 ページ参照

7 撮影画像の保存

操作手順	操作方法
1	Saveボタンをクリックするか、Fileメニューの Save 機能を選択します。 〈撮影後の状態〉 〈File メニューの Save 機 能 〉
2	ファイルを保存する場所、ファイル名、ファイルの種類を設定し、保存ボタンをクリックします。 〈Windows の 場 合 〉 〈Macintosh の 場 合 〉 〈ファイル形式〉 ● Fuji Img/Inf Format 富士写真フイルム独自のファイル形式です。 定量性が保持された解析に適したフォーマットです。 ● 16 bit Linear Tiff 16bit の TIFF 形式です。 他のソフトでの解析が可能になります。 ● 8bit Color Tiff 8bit の Color 階調を持った Tiff 形式です。 変更した階調をそのまま保存できます。

※取扱説明書 78 ページ参照

8 撮影画像のプリント

操作手順	操作方法
1	Printボタンをクリックするか、Fileメニューの Print 機能を選択します。 〈撮影後の状態〉 〈File メニューの Print 機 能 〉
2	〈Windows® の場合〉 出力するプリンターの設定、出力するプリントの種類（実寸大プリント、画面プリント）を選択し、OK ボタンをクリックします。 画面プリントの場合は、出力したい画面を表示させておきます。 ➡ 画像がプリントされます。 〈Macintosh™ の場合〉 出力するプリントの種類（実寸大プリント・画面プリント）を選択し、OKボタンをクリックします。画面プリントの場合は、出力したい画面を表示させておきます。 Print ボタンをクリックします。 ➡ 画像がプリントされます。
3	Complete ボタンをクリックします。 ➡ はじめの画面に戻ります。

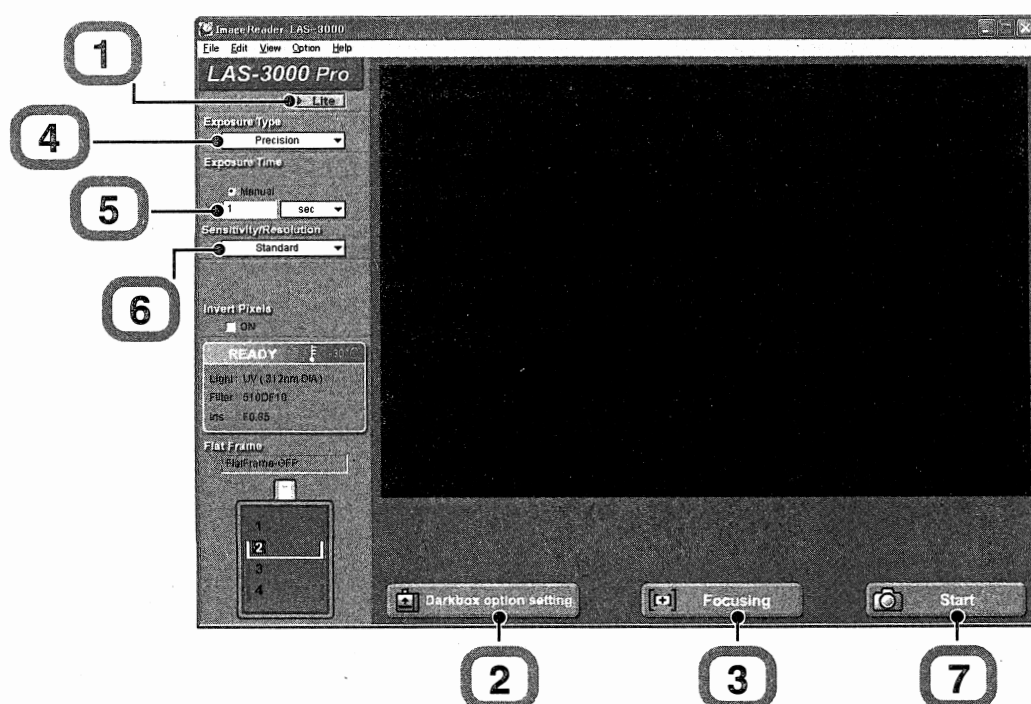
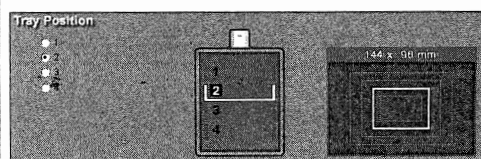
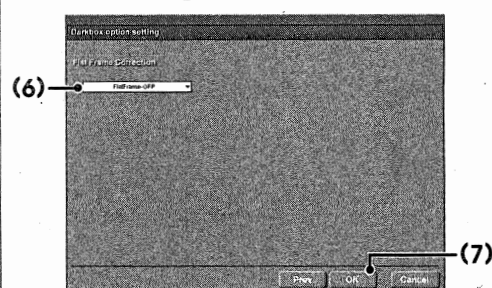
※取扱説明書 76 ページ参照

9 終了方法

操作手順	操作方法
1	File メニューから Quit を選択します。
2	CCD の冷却を、中止するか保持するかを選び、OK ボタンをクリックします。

Tips Keep the CCD cooling after quit を選択すると、CCD の冷却温度が保たれたままになり、温度を下げる時間を待つことなくすぐに使用できます。

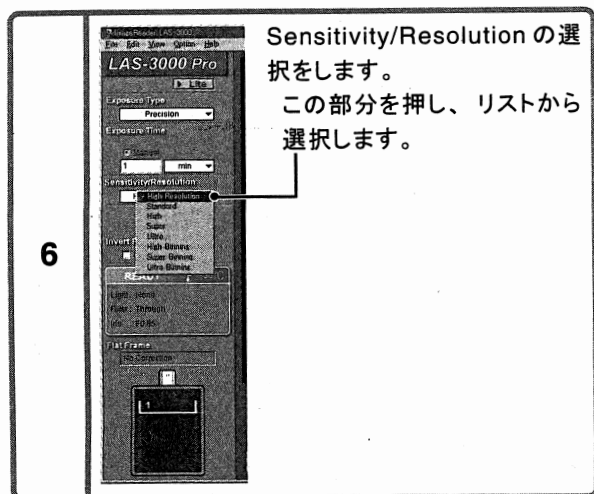
操作手順	操作方法
3	パソコンを終了します。
4	IDX の電源を切ります。

5 サンプルの撮影（Pro モード）

光 源 、フィルタ、絞りの組み合わせを変更して検出をすることができます。

操作手順	操作方法
1	Lite/Pro 切り替えボタンをクリックして Pro モードにします。
2	Darkbox option setting ボタンをクリックします。 **(1)** 光源を選択します。 Light: Non（光源なし） UV（312nm 透 過 ） Blue（460nm 落 射 ） EPI-White（白色落射） DIA-White（白色透過） **(2)** フィルタを選択します。 Filter: 1 Through（フィルタなし） 2 605DF40 3 Y515Di 4 510DF10 5 Through（フィルタなし） **(3)** 絞りの選択をします。 Iris: F0.85 F2.8
2	**(4)** Tray Positionをサンプルのサイズにあわせて選択します。 **(5)** Next ボタンをクリックします。 **(6)** 条件にあった FlatFrame を選択します。 **(7)** OK ボタンをクリックします。

Tips FlatFrame とは、レンズ特性の補正をするために必要となる補正ファイルです。Option メニューのFlatFlame Calibrationで作成することができます。

※3～5までの操作は、「4 サンプルの撮影（Lite モード）」の3 ピントの調整、4 露出方法、露出時間の設定と同じです。

6

Sensitivity/Resolution の選択をします。
この部分を押し、リストから選択します。

> **Tips** Pro モードでは、Standard、High、Super、Ultra に加えて、ビニング画像（High Binning、Super Binning 、Ultra Binning ）、High Resolution 画像検出の設定も行うことができます。感度と画素数の関係は、本書 13 ページをご参照ください。

※7の操作は、「4 サンプルの撮影（Lite モード）」の 6 露出と同じです。

6 使用上のご注意

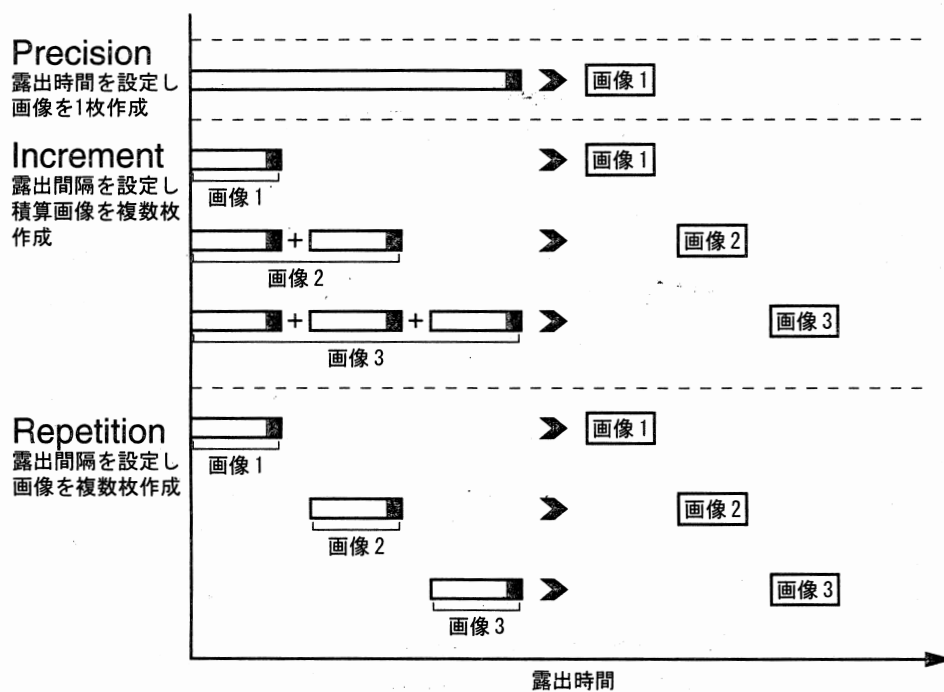
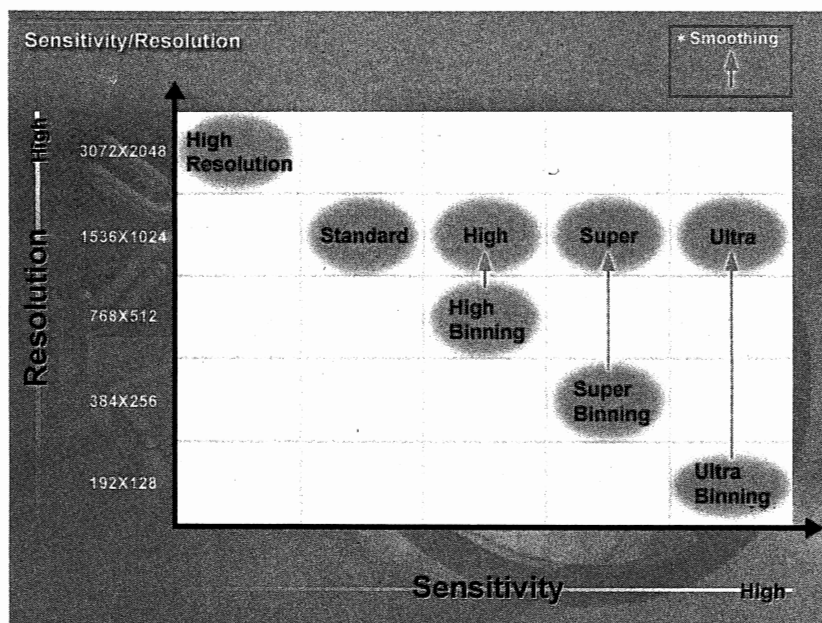
1 サンプルトレイ

1. メンブレンの乾燥を防ぐためハイブリダイゼーションバックを使用することをお勧めします。
   このとき、平面性を保つためにメンブレンにかからない部分をシール等でトレイに固定するとシャープな画像を得ることができます。

2. サンプルトレイが汚れた場合には、水洗で洗浄しよく乾燥させてから使用してください。

付録

■撮影方法について

Precision...... Exposure Timeで設定した時間の露出を行います。
Increment .... Interval Time で設定した時間ごとに露出を行い、画像の積算を行います。
Repetition .... Interval Time で設定した時間ごとに露出を行い、各区間ごとの画像を表示します。

■検出感度と画素数について

感　　度	画素数（横×縦）	画像ファイルサイズ
High Resolution	3072 × 2048	12.6MB
Standard	1536 × 1024	3.15MB
High	1536 × 1024	3.15MB
Super	1536 × 1024	3.15MB
Ultra	1536 × 1024	3.15MB
High Binning	768 × 512	786KB
Super Binning	384 × 256	197KB
Ultra Binning	192 × 128	49.2KB

■検出試薬対応表

分　類	試 薬 名	LAS-3000 設定			
		Lite モード	Pro モード		
		Method	Bright	Filter	Iris
化学発光	ECL	Chemiluminescence	none	Through	0.85
	ECL+	Chemiluminescence	none	Through	0.85
	Lumi-Light Plus	Chemiluminescence	none	Through	0.85
	Renaissance	Chemiluminescence	none	Through	0.85
	Super Signal	Chemiluminescence	none	Through	0.85
	Bright-Star	Chemiluminescence	none	Through	0.85
	CDP-Star	Chemiluminescence	none	Through	0.85
	CSPD	Chemiluminescence	none	Through	0.85
蛍光色素	SYBR Green I	Fluorescence:SYBR Green	Blue(460nm EPI)	Y515-Di	0.85
	SYBR Green II	Fluorescence:SYBR Green	Blue(460nm EPI)	Y515-Di	0.85
	EtBr	Fluorescence:EtBr	UV(312nm DIA)	605DF40	2.8
	SYBR Gold	Fluorescence:SYBR Green	Blue(460nm EPI)	Y515-Di	0.85
	SYPRO Ruby	Fluorescence:SYBR Green	Blue(460nm EPI)	Y515-Di	0.85
	SYPRO Orange	Fluorescence:SYBR Green	Blue(460nm EPI)	Y515-Di	0.85
	SYPRO tangerine	Fluorescence:SYBR Green	Blue(460nm EPI)	Y515-Di	0.85
	FITC	Fluorescence:SYBR Green	Blue(460nm EPI)	Y515-Di	0.85
	FAM	Fluorescence:SYBR Green	Blue(460nm EPI)	Y515-Di	0.85
	EGFP	Fluorescence:GFP	Blue(460nm EPI)	510DF10	0.85
	ECFP	Fluorescence:GFP	Blue(460nm EPI)	510DF10	0.85
蛍光色素（ケミフローレッセンス）	Attophos *1	Fluorescence:SYBR Green	Blue(460nm EPI)	Y515-Di	0.85
	ECL+	Fluorescence:SYBR Green	Blue(460nm EPI)	Y515-Di	0.85
デジタイズ	銀染色	Digitize:DIA	White(DIA)	Through	2.8
	CBB 染色	Digitize:DIA	White(DIA)	Through	2.8
	X 線フィルム	Digitize:DIA	White(DIA)	Through	2.8
	NBT/BCIP	Digitize:EPI	White(EPI)	Through	2.8

*1：ナイロンメンブレン上の核酸検出の目的では Attophos を使用できません。
注)UV を使用したプレラベル法のライセンスは受けておりません。